

# **ESTUDIO DE LA RUTA CELULAR JAK2/STAT3 COMO POTENCIAL INHIBIDOR EN EL MODELO DE FIBROSIS PULMONAR**

## **INTRODUCTION**

Idiopathic La fibrosis pulmonar idiopática (FPI) es la enfermedad pulmonar con mayor incidencia y peor pronóstico. Estudios recientes sugieren que la familia de las *cucurbitaceae*, inhibidores selectivos de la ruta JAK2/STAT3, pueden mejorar la patogénesis de la enfermedad, al haberse confirmado sus propiedades antiinflamatorias y antioxidantes en otras enfermedades. Sin embargo se desconoce su papel en FPI.

## **OBJECTIVE**

El propósito de este estudio es evaluar el efecto de la Cucurbitacina I (Cul) en un modelo murino de fibrosis pulmonar inducida con bleomicina.

## **MATERIAL AND METHODS**

En el presente trabajo se estudiaron dos modelos farmacológicos. En el modelo preventivo las ratas Wistar fueron instiladas con una dosis única de bleomicina intratraqueal (BLM)(3.75 U/kg; n=12) para inducir la lesión pulmonar. Durante 21 días se administró Cul (20mg/kg/día; n=6) o vehículo de Cul (control y grupo FPI) por vía intraperitoneal. El modelo curativo se diferencia del preventivo en el comienzo de la administración farmacológica a los 7 días de inducir la enfermedad. El seguimiento de la evolución animal y el ratio de ventilación-perfusión se realizó mediante las técnicas de imagen TC/SPECT. 24 horas después de la última dosificación, las ratas se sacrificaron y se procedió a la extracción pulmonar de los sujetos así como del corazón con el fin de determinar la hipertrofia del ventrículo derecho. Se realizó el recuento y caracterización de las células totales extravasadas en lavado broncoalveolar (LBA) así como el contenido de proteína total y la concentración de IL-6 e IL-13 en LBA y tejido pulmonar. El LBA también se empleó para la determinación de los niveles de péptido amino terminal intacto de procolágeno tipo III (PIIINP) por radioinmunoanálisis.

Las tinciones de hematoxilina-eosina y masson tricrómico permitieron el estudio de la histología del tejido pulmonar. Se determinó la expresión génica y proteica de TGF- $\beta$ 1, CTGF, COL1A y ET-1 mediante las técnicas de real time PCR y WB como marcadores de remodelado vascular. Las proteínas P-STAT3, P-SMAD3 y P-JAK2, fueron determinadas mediante cuantificación proteica e inmunohistoquímica. Por último se estudió la expresión y distribución de JAK2 y STAT3 en tejido de pacientes con fibrosis pulmonar e hipertensión pulmonar.

## **RESULTS**

La cuantificación de las imágenes TC/SPECT mostraron una reducción de las áreas fibróticas en el grupo tratado con Cul. El tratamiento farmacológico permitió el restablecimiento del espacio aéreo pulmonar hasta valores control en ambos modelos estudiados. El grupo con tratamiento farmacológico restauró el ratio de ventilación/perfusión tras administrar Cul durante 14 días. La concentración de proteína total en homogenado pulmonar y en lavado broncoalveolar disminuyó con el tratamiento de Cul 1mg/kg/día reduciendo los niveles de células inflamatorias e inhibiendo la expresión de IL-6 e IL-13.

Las tinciones de hematoxilina eosina revelaron como el grupo animal tratado farmacológicamente presenta una mejora de la histología pulmonar, revirtiendo el remodelado vascular y la hipertrofia del ventrículo derecho. La tinción de masson tricrómico mostró una disminución de los depósitos de colágeno. Se determinó el valor de Ashcroft, evaluador del grado de fibrosis pulmonar, que descendió significativamente en el grupo tratado con Cul.

Los resultados presentan una sobreexpresión génica y proteica de TGF- $\beta$ 1, CTGF, COL1A y ET-1 en los grupos de bleomicina frente a las ratas control. Dicha condición fue revertida mediante el tratamiento con Cul que restableció los valores a niveles control. A nivel inmunohistoquímico los resultados muestran una disminución de los depósitos de Col1A en el grupo tratado frente al grupo sin tratamiento. Los análisis proteicos e inmunohistoquímicos de JAK2, STAT3 y SMAD3 revelaron una sobreexpresión en las ratas con bleomicina mientras que la expresión proteica fue inhibida en el grupo tratado con Cul. En consonancia con los resultados obtenidos, el análisis inmunohistoquímico del parénquima pulmonar de pacientes con FPI e HP asociada muestran una sobreexpresión de las formas fosforiladas de JAK2 y STAT3 frente a la ausencia de expresión en tejido pulmonar sano. Por último, se determinaron de los niveles de PIIINP liberados al medio extracelular, siendo los niveles inexistentes tanto en el grupo control como el tratado farmacológicamente.

## **CONCLUSION**

Los resultados demuestran la relevancia de la ruta celular JAK2/STAT3 en la instauración y progresión de la FPI. La administración curativa y preventiva de un inhibidor de la ruta JAK2/STAT3 puede ser un potencial tratamiento para la fibrosis pulmonar, ya que mejora parámetros indicativos de la patología.